Aus dem
Lehrstuhl für Klinische Biochemie
und der
Biochemischen Abteilung des Diabetes - Forschungs - Institutes
an der Universität Düsseldorf
(Direktor : Prof. Dr. H. Reinauer)

ÜBER DEN EINFLUSS ORAL APPLIZIERTER TRIGLYCERIDE AUF DIE MUSKELPROTEOLYSE BEI DER RATTE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Thomas Kaufmann
1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. Reinauer

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Miller

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0151

Aus dem
Lehrstuhl für Klinische Biochemie
und der
Biochemischen Abteilung des Diabetes-Forschungs-Institutes
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Reinauer)

ÜBER DEN EINFLUß ORAL APPLIZIERTER TRIGLYCERIDE AUF DIE MUSKELPROTEOLYSE BEI DER RATTE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Thomas Kaufmann
1982

Für Astrid,
Andreas
und meine Eltern.

Geheimnisvoll am lichten Tag,
Läßt sich Natur des Schleiers nicht berauben,
Und was sie Deinem Geist nicht offenbaren mag,
Das zwingst Du ihr nicht ab
Mit Hebeln und mit Schrauben.
(Goethe - Faust/Erster Teil)

Inhaltsverzeichnis

I)	Einleitung	1
II)	Materialien und Methoden	2
	-Kurzzeitversuche	2
	-Mehrtägige Versuche	3
	-Analysenverfahren	4
III)	Ergebnisse	6
	-Kurzzeitversuche	6
	-Mehrtägige Versuche	6
	-Abbildungen	9
	-Tabellen	15
IV)	Diskussion	20
V)	Literaturverzeichnis	26

I) Einleitung

Nach einer Arbeit von JANSING und REINAUER (1) bewirken intravenöse Infusionen von Lipidemulsionen beim Menschen einen Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren im Blut. Aus den Befunden wurde gefolgert, daß Lipidemulsionen die Freisetzung von Aminosäuren aus der Muskulatur hemmen. Andere Autoren (2) hatten bereits beschrieben, daß bei der Ratte die Stickstoffausscheidung im 24h-Urin nach Applikation einer definierten eiweißhaltigen Testdiät signifikant erniedrigt ist, wenn die Tiere vor der Applikation der Testdiät über mehrere Tage mit einer nur aus Fett und Eiweiß bestehenden Diät anstelle einer kohlenhydrat- und eiweißreichen Nahrung gefüttert wurden. Dieses Phänomen wurde von den Untersuchern mit einer verminderten Induzierbarkeit der aminosäurenabbauenden Leberenzyme nach fettreicher Vorfütterung erklärt (2). Weiterhin ist bekannt, daß bei der Ratte durch eine eiweißfreie Kombinationsdiät aus Fett und Kohlenhydraten die Spiegel der verzweigtkettigen Aminosäuren im Plasma leicht abfallen (3). Es gibt allerdings bisher keine verläßlichen Untersuchungen mit geeigneten Parametern darüber, wie sich die Muskelproteolyse unter Applikation einer ausschließlich aus Fett bestehenden Diät verhält.

Ziel dieser Arbeit war es daher zunächst, an Ratten durch orale Applikation von Fett den beim Menschen beobachteten Effekt auf die Aminosäurespiegel im Blut zu bestätigen. In einem weiteren Schritt sollte in mehrtägigen Versuchen das Verhalten der Muskelproteolyse unter dem Einfluß einer nur aus Fett bestehenden Diät untersucht werden. Als geeigneten Parameter für die Muskelproteolyse wählten wir neben der Gesamtstickstoff-Ausscheidung die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin, die als ein Maß für den Muskelproteinturnover gewertet wird.

UNIV. KLINIKEN BIBL.

II) Materialien und Methoden

Als Versuchstiere dienten bei allen Experimenten männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 200 g (Lieferant Firma Winkelmann, Paderborn). Bei dem zur Ernährung der Versuchstiere verwendeten Lipid handelte es sich um Oleum olivarum DAB 8, das von der Firma Caelo,Hilden, bezogen wurde. Die eigene gaschromatographische Analyse (Gaschromatograph Siemens L 350) ergab für die von uns verwendete Charge folgendes Verteilungsmuster der Esterfettsäuren (Tab.1):

Tab.1 Esterfettsäurenverteilungsmuster des verwendeten Olivenöls

Palmitinsäure	(C 16)	8%
Stearinsäure	(C 18)	3%
Ölsäure	(C 18/1)	82%
Linolsäure	(C 18/2)	6%
andere	(C 18/3, C 16/1)	1%

Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden Kurzzeitversuche und mehrtägige Versuche durchgeführt. Die Versuchstiere erhielten bei allen Experimenten Wasser ad libitum.

1)KURZZEITVERSUCHE: Die Kurzzeitversuche dienten zur Untersuchung des Verhaltens der Aminosäuren im Blut nach einmaliger Applikation von 2ml Olivenöl bzw. 2ml Kochsalzlösung (0,9%) über eine Schlundsonde. 11 Ratten wurde zunächst über Nacht für 12h in Stoffwechselkäfigen das Futter entzogen. Im Anschluß daran wurde den Ratten zur Bestimmung der Ausgangswerte Blut abgenommen. Danach erhielten 6 Ratten über eine Schlundsonde je 2ml Olivenöl, während den 5 Ratten der Kontrollgruppe je 2ml Kochsalzlösung (0,9%) verabreicht wurden. In der Ölgruppe erfolgten sechs weitere Blutabnahmen in zweistündigen Abständen, während bei der Kontrollgruppe

drei weitere Blutabnahmen in vierstündigen Abständen durchgeführt wurden.

2) MEHRTÄGIGE VERSUCHE: Alle mehrtägigen Versuche wurden in speziellen Stoffwechselkäfigen durchgeführt, die eine quantitative Sammlung der 24h-Urinausscheidung gewährleisteten. Der Urin wurde in sterilen Sammelgefäßen aufgefangen, in die zur Bakteriostase je 1ml 1M HCl vorgelegt war. Die mehrtägigen Versuche dienten zur Untersuchung der 3-Methylhistidin-Ausscheidung und Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin sowie des Verhaltens der Aminosäuren im Blut unter den im Folgenden aufgeführten Bedingungen:

GRUPPE A: 2 Ratten erhielten über 4 Tage ad libitum eine 3-Methylhistidin-freie Vollnahrung (Tab.2). Diese enthielt neben den notwendigen Vitaminen und Elektrolyten als Kalorienträger Fett, Kohlenhydrate und Protein in den allgemein in der Rattenhaltung üblichen Anteilen (4). Der Proteinanteil war in Form eines 3-Methylhistidin-freien Aminosäurengemisches zugesetzt, das aus Aminosäureninfusionslösungen Aminohek(10%) der Firma HEK Pharma GmbH durch Lyophilisierung gewonnen wurde. Während der vier Versuchstage wurde der Urin in 12h-Intervallen gesammelt.

Tab.2 Zusammensetzung des 3-Methylhistidin-freien Normalfutters für Versuchsgruppe A

auf 100g	Anteil an Gesamtkalorien(100%)
25g Aminosäurenlyophilisat	26.95% (Protein)
50g Stärke 11g Saccharose	65.77% (Kohlenhydrate)
3g Olivenöl	7.28% (Fett)
1g Vitaminmischung	
6g Elektrolytmischung	
4g Cellulose pulverisiert	

GRUPPE B: 5 Ratten wurden über 3,5 Tage gehungert. Der Urin wurde in 12h-Intervallen gesammelt. Blutabnahmen erfolgten nach 12h, 36h, 60h und 84h.

GRUPPE C: 6 Ratten wurden zunächst über 24h gehungert, um mit der Gruppe B vergleichbare Ausgangswerte zu erhalten. Vom 2. bis einschließlich 4.Tag erhielt jedes Tier täglich 2 x 2ml Olivenöl über eine Schlundsonde. Dies entspricht nach den für Ratten ermittelten Werten für die metabolisierbare Energie von Lipiden (5) bei 8,77 kcal/g einer täglichen Kalorienzufuhr von 32,89 kcal je Versuchstier. Der tägliche Bedarf der Ratte, der zur Erhaltung des Körpergewichtes benötigt wird, wird in der Literatur nach der Gleichung von BRODY und PROCTOR berechnet ($Q = 70,4 \times$ Körpergewicht in $kg^{0,73}$ zuzüglich eines Zuschlags von 25% für normale körperliche Aktivität) (5,6). Danach ergibt sich für unsere Versuchstiere ein Bedarf von 27,17 kcal/die, der durch die Fütterung mit 4ml Olivenöl gedeckt ist. Der Urin der ölernährten Tiere wurde über die vier Versuchstage in 12h-Intervallen gesammelt. Blutabnahmen erfolgten nach 12h, 36h, 60h und 84h. Die Blutabnahmen nach 36h, 60h und 84h wurden jeweils genau 12h postprandial durchgeführt.

ANALYSENVERFAHREN:

Zur Bestimmung der Aminosäuren im Blut wurden den Ratten mit einer heparinisierten Blutzuckerkapillare 40 µl Blut aus der Schwanzspitze entnommen. Das Blut wurde sofort mit Sulfosalicylsäure (3%) enteiweißt, zentrifugiert und der klare Überstand bei $-25^{\circ}C$ eingefroren. Die Aminosäureanalysen wurden auf einem Biotronic Aminosäuren-Analysator BC 6000 mit Spectraphysics Integrator System AA durchgeführt.

Zur Bestimmung der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin wurde ein Aliquot jeder Sammelperiode in einem zugeschmolzenen Glaskolben mit 6M HCl über 18 Stunden bei $110^{\circ}C$ hydrolysiert. Die Analysen wurden

auf einem Biotronic Aminosäuren-Analysator BC 6000 im Kurzprogramm durchgeführt.

Zur Bestimmung der Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin wurde ein Aliquot jeder Sammelperiode in einem Infrarot-Aufschlußgerät Büchi 430 mit konzentrierter Schwefelsäure und Selenreaktionsgemisch verascht. Die Bestimmung des Ammoniaks erfolgte unter Verwendung von Ninhydrin-Reagenz auf einem umgerüsteten Biotronic Aminosäuren-Analysator. Unter Umgehung der Chromatographiesäule gelangte die Probe aus dem Probengeber direkt in den Mischblock und von dort zusammen mit dem Reagenz über das Coil in die Durchflußküvette des Photometers.

III) Ergebnisse

1) KURZZEITVERSUCHE: Die einmalige Applikation von 2ml Olivenöl über eine Schlundsonde bewirkt im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die 2ml Kochsalzlösung (0,9%) erhielt, über 12h einen kontinuierlichen Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren im Blut (Tab.3 u. 4). Besonders ausgeprägt ist dieser Konzentrationsabfall bei Alanin sowie bei den verzweigtkettigen Aminosäuren. Alanin ist nach 10h gegenüber der Kontrollgruppe um etwa 40% vermindert (Abb.1), während die Konzentrationen von Valin, Leucin und Isoleucin nach 12h um 30%, 30% bzw. 25% unter den Werten der Vergleichsgruppe liegen (Abb.2-4). Weniger ausgeprägt, aber ebenfalls statistisch signifikant (alle Signifikanzprüfungen mit 2-Stichproben - t-Test für unverbundene Stichproben;$p<0.025$) ist der Konzentrationsabfall bei Threonin, Serin, Glutamin und Cystin. Alle übrigen von uns gemessenen Aminosäuren zeigen nach Applikation von 2ml Olivenöl keine signifikante Abweichung gegenüber der Kontrollgruppe. Somit werden die Befunde nach parenteraler Fettgabe (1) durch diesen Versuchsansatz bestätigt.

2) MEHRTÄGIGE VERSUCHE: Zur Deutung dieser ausgeprägten Konzentrationsänderungen verschiedener Aminosäuren im Blut nach einmaliger oraler Lipidgabe wurden anschließend in mehrtägigen Versuchen bei drei Versuchsgruppen die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin, die Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin und das Verhalten der Aminosäuren im Blut untersucht.

In der Versuchsgruppe A, deren Tiere über vier Tage ad libitum ein 3-Methylhistidin-freies Normalfutter (Tab.2) erhielten, änderte sich erwartungsgemäß die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin über vier Tage nicht (Tab.5;Abb.5).

Dagegen beobachteten wir in der Versuchsgruppe B, deren Tiere über 3,5 Tage gehungert wurden, eine

starke Zunahme der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin über 129% am 2.Tag auf 165% des Ausgangswertes am 3.Tag (Tab.5;Abb.6). Dieser Anstieg ist signifikant ($p<0.025$) gegenüber dem Ausgangswert sowie gegenüber den Vergleichswerten der normalernährten Gruppe A und der ölernährten Gruppe C. Weiterhin zeigte die Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin bei den hungernden Tieren über drei Tage eine leichte Zunahme gegenüber dem Ausgangswert (Tab.6;Abb.8). Diese ist nicht signifikant ($p<0,025$).

Bei den Tieren der Versuchsgruppe C, die nach 24h Hunger über drei Tage mit 2 x 2ml Olivenöl/die ernährt wurden, zeigen die 3-Methylhistidin-Ausscheidung und die Gesamtstickstoff-Ausscheidung deutliche Abweichungen von den Werten der Hungergruppe B. Entgegen der starken Zunahme in der Hungergruppe blieb die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h bei den ölernährten Tieren konstant. Die Werte waren sowohl vom eigenen Ausgangswert als auch von den Vergleichswerten der normalernährten Versuchsgruppe A nicht signifikant verschieden ($p<0,025$), lagen aber am 2. und 3.Tag signifikant ($p<0,025$) niedriger als die Vergleichswerte der Hungergruppe B (Tab.5;Abb.7). Weiterhin war ein Rückgang der Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin der ölernährten Gruppe über 76% am 2.Tag und 73% am 3.Tag auf 51% des Ausgangswertes am 4.Tag zu beobachten (Tab.6;Abb.9). Diese Werte liegen signifikant niedriger als der Ausgangswert und als die Vergleichswerte der Hungergruppe ($p<0,025$). Somit ergibt sich zusammenfassend in 3-Methylhistidin-Ausscheidung und Gesamtstickstoff-Ausscheidung eine eindrucksvolle Diskrepanz zwischen hungernden und ölernährten Tieren.

Auch die Aminosäurenkonzentrationen zeigten im mehrtägigen Versuch bemerkenswerte Unterschiede zwischen hungernden und ölernährten Tieren (Tab.7,8). Bei Alanin fanden wir in beiden Gruppen zunächst vom 1. auf den 2.Tag einen Konzentrationsabfall um etwa 40%. Die

Alaninkonzentration stieg dann jedoch in der Hungergruppe am 3. und 4.Tag bis über den Ausgangswert an, während sie in der Ölgruppe mit etwa 70% des Ausgangswertes signifikant ($p<0,025$) unter dem Wert der hungernden Tiere blieb (Abb.10). Ebenfalls auffällig ist der kontinuierliche Konzentrationsanstieg der verzweigtkettigen Aminosäuren bei den hungernden Tieren (Abb.11-13). Valin erreichte dabei am 4.Tag 164%, Leucin 172% und Isoleucin 145% der Ausgangskonzentration. Eine solche Konzentrationszunahme blieb bei den ölernährten Tieren aus (Abb.11-13). Der von uns beobachtete Konzentrationsanstieg der verzweigtkettigen Aminosäuren im Blut unter Hungerbedingungen ist signifikant ($p<0,025$) sowohl gegenüber den Ausgangswerten als auch gegenüber den Vergleichswerten der ölernährten Gruppe.

Ähnlich den verzweigtkettigen Aminosäuren zeigten unter Hungerbedingungen auch Tyrosin und Phenylalanin sowie Threonin, Glutamin und Histidin im viertägigen Versuch einen deutlichen Konzentrationsanstieg. Dieser ist signifikant ($p<0,025$) gegenüber den Ausgangswerten (HIS,PHE,TYR) beziehungsweise den Vergleichswerten der Ölgruppe (HIS,PHE,TYR,GLN,THR). Bei den ölernährten Versuchstieren blieb hingegen im mehrtägigen Versuch ein Konzentrationsanstieg der erwähnten Aminosäuren aus, oder aber es war sogar ein deutlicher Konzentrationsabfall zu beobachten (TYR,HIS,GLN,THR). Die Blutspiegel in der Ölgruppe lagen am vierten Tag bei Tyrosin 40%, bei Phenylalanin,Histidin,Glutamin und Threonin um jeweils 25% unter den Vergleichswerten der Hungergruppe. Als einzige Aminosäure lag am vierten Tag Serin in der Ölgruppe signifikant ($p<0,025$) über dem Vergleichswert der Hungergruppe.

Alle übrigen gemessenen Aminosäuren zeigten im mehrtägigen Versuch in ihrer Kinetik keinen Unterschied zwischen hungernden und ölernährten Tieren.

Tab.4 Aminosäurenkonzentrationen im Blut nach einmaliger Applikation von 2ml Olivenöl
(µmol/l ; n=6 ; Means +/- SEM)

	0	2h	4h	6h	8h	10h	12h
ASP	61.65 ± 1.12	58.95 ± 7.36	51.94 ± 7.33	48.53 ± 6.32	54.66 ± 4.04	51.60 ± 2.25	56.25 ± 13.06
THR	259.35 ± 32.58	237.84 ± 21.11	230.63 ± 32.54	243.73 ± 19.91	217.17 ± 15.97	190.05 ± 13.50	179.25 ± 10.80
SER	283.78 ± 24.02	245.91 ± 21.97	235.02 ± 33.72	230.29 ± 28.89	242.35 ± 35.85	206.18 ± 22.37	210.67 ± 19.82
ASN	74.36 ± 16.49	64.20 ± 12.26	64.49 ± 24.68	58.84 ± 11.75	54.43 ± 17.41	42.54 ± 13.96	41.25 ± 1.72
GLU	329.49 ± 44.44	308.36 ± 37.47	291.82 ± 38.45	301.14 ± 35.22	321.69 ± 56.00	295.87 ± 29.54	308.63 ± 48.02
GLN	827.59 ±109.05	737.80 ± 96.81	692.90 ±134.85	673.33 ± 92.36	671.89 ± 72.89	670.44 ± 52.81	707.07 ± 49.59
GLY	453.13 ± 37.72	468.87 ±119.05	428.55 ± 53.47	469.71 ± 79.84	458.50 ±100.87	451.73 ± 81.47	452.80 ± 65.53
ALA	306.04 ± 28.03	246.67 ± 35.96	221.14 ± 46.50	205.05 ± 33.15	183.08 ± 35.24	175.02 ± 33.44	191.79 ± 30.35
CIT	56.74 ± 10.03	53.29 ± 3.77	43.12 ± 4.97	43.04 ± 2.55	43.70 ± 5.92	43.96 ± 5.55	40.71 ± 7.81
VAL	236.46 ± 15.87	208.57 ± 22.74	190.54 ± 28.16	193.58 ± 41.78	177.15 ± 32.20	158.61 ± 34.23	146.09 ± 24.72
CYS	21.71 ± 3.45	23.13 ± 1.38	19.03 ± 2.14	18.22 ± 2.46	15.82 ± 2.04	16.54 ± 1.65	16.97 ± 1.46
ILE	120.90 ± 11.60	108.11 ± 11.73	98.04 ± 12.79	97.24 ± 12.42	94.55 ± 9.10	80.76 ± 15.84	75.10 ± 11.36
LEU	179.37 ± 14.06	161.51 ± 15.13	148.95 ± 18.96	153.53 ± 21.99	142.58 ± 18.24	124.66 ± 20.32	116.73 ± 12.69
TYR	83.10 ± 18.35	70.60 ± 14.16	58.41 ± 13.40	60.01 ± 13.78	59.16 ± 11.27	51.86 ± 11.62	59.96 ± 15.85
PHE	83.93 ± 12.91	80.27 ± 11.31	78.90 ± 12.33	89.18 ± 21.82	84.13 ± 17.01	83.21 ± 6.80	79.94 ± 15.55
ORN	51.46 ± 4.68	55.40 ± 5.83	51.91 ± 5.31	52.52 ± 5.26	51.80 ± 2.11	46.58 ± 2.61	44.78 ± 4.46
LYS	501.77 ± 47.96	517.23 ± 53.55	476.94 ± 47.30	526.00 ± 46.96	518.81 ± 35.56	512.35 ± 38.55	500.68 ± 29.09
HIS	66.22 ± 8.30	69.87 ± 10.06	64.59 ± 10.37	66.46 ± 5.53	58.14 ± 4.11	59.10 ± 6.10	57.96 ± 6.33
ARG	186.20 ± 10.98	179.19 ± 19.02	156.35 ± 9.42	156.97 ± 7.23	156.97 ± 11.72	152.09 ± 8.45	146.22 ± 11.75

Tab.3 Aminosäurenkonzentrationen im Blut nach einmaliger Applikation von 2ml Kochsalzlösung (0,9%)
(µmol/l ; n=5 ; Means +/- SEM)

	0	4h	8h	12h
ASP	46.26 ± 12.71	47.35 ± 17.50	38.83 ± 2.49	39.68 ± 5.53
THR	263.31 ± 15.44	250.09 ± 42.39	235.20 ± 37.44	218.94 ± 28.75
SER	282.51 ± 21.55	284.74 ± 34.63	262.18 ± 20.78	237.99 ± 10.57
ASN	88.96 ± 9.25	93.26 ± 14.88	98.70 ± 7.07	86.05 ± 8.06
GLU	289.31 ± 62.34	313.23 ± 37.10	293.77 ± 68.31	286.54 ± 24.86
GLN	914.07 ± 43.91	827.46 ± 94.60	758.24 ± 84.44	826.48 ± 46.43
GLY	512.66 ± 33.68	491.30 ± 32.70	475.89 ± 26.12	463.77 ± 48.58
ALA	328.26 ± 30.32	325.75 ± 57.85	304.38 ± 37.77	288.88 ± 30.35
CIT	58.88 ± 7.19	55.89 ± 5.22	51.68 ± 11.91	54.48 ± 9.90
VAL	220.93 ± 25.90	214.79 ± 22.65	217.88 ± 30.76	204.62 ± 11.77
CYS	27.93 ± 2.20	26.82 ± 3.29	25.29 ± 3.77	26.37 ± 2.31
ILE	119.65 ± 24.13	112.66 ± 12.65	107.69 ± 10.63	100.86 ± 9.61
LEU	185.03 ± 27.29	182.81 ± 21.03	168.87 ± 13.05	167.56 ± 9.27
TYR	72.83 ± 16.87	66.30 ± 4.71	65.82 ± 12.39	67.84 ± 10.50
PHE	92.12 ± 11.83	109.29 ± 10.84	99.80 ± 8.48	103.89 ± 15.61
ORN	67.86 ± 9.96	62.30 ± 8.08	62.23 ± 7.24	62.08 ± 8.51
LYS	498.33 ± 82.77	485.15 ± 46.27	482.07 ± 47.01	473.02 ± 44.29
HIS	78.21 ± 8.10	73.44 ± 6.47	72.55 ± 9.67	68.11 ± 3.64
ARG	195.83 ± 35.75	187.67 ± 28.19	173.72 ± 25.23	171.88 ± 20.04

3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin pro Ratte im mehrtägigen Versuch (Abb.5 - 7)

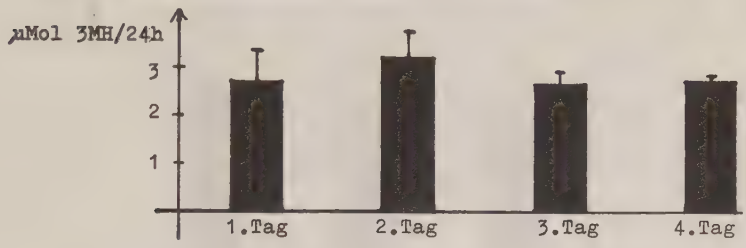

Abb.5 3MH-freies Futter ad libitum über 4 Tage (Gruppe A) (Means +/- SEM; n=2)

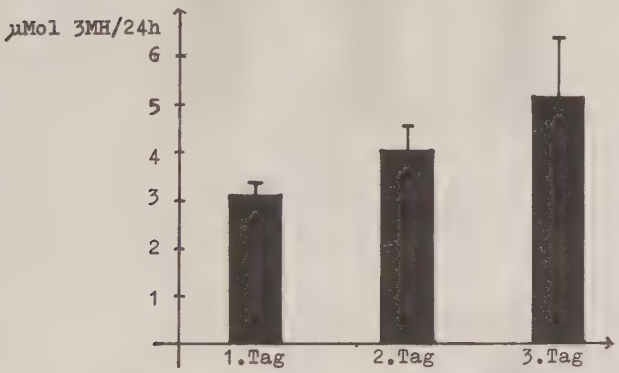

Abb.6 Hunger über 3 Tage (Gruppe B) (Means +/- SEM; n=5)

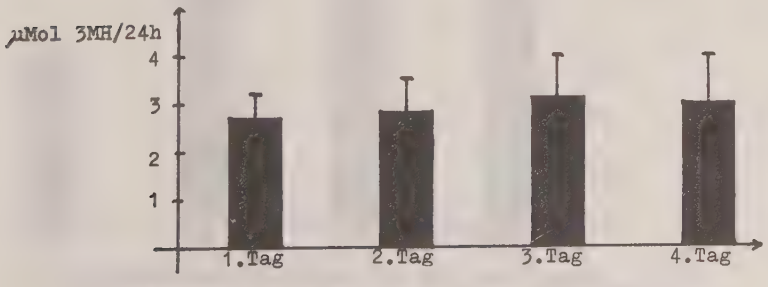

Abb.7 Hunger über 24h und anschließende Ernährung mit 4ml Olivenöl/die über 3 Tage (Gruppe C) (Means +/- SEM; n=6)

Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin
pro Ratte im mehrtägigen Versuch (Abb.8 und 9)

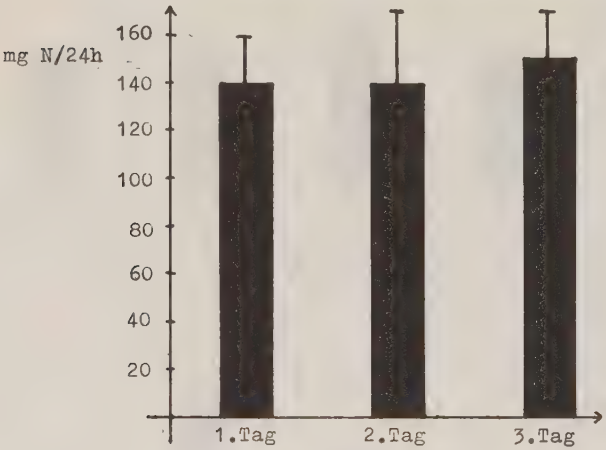

Abb.8 Hunger über 3 Tage (Gruppe B)
(Means +/- SEM ; n=5)

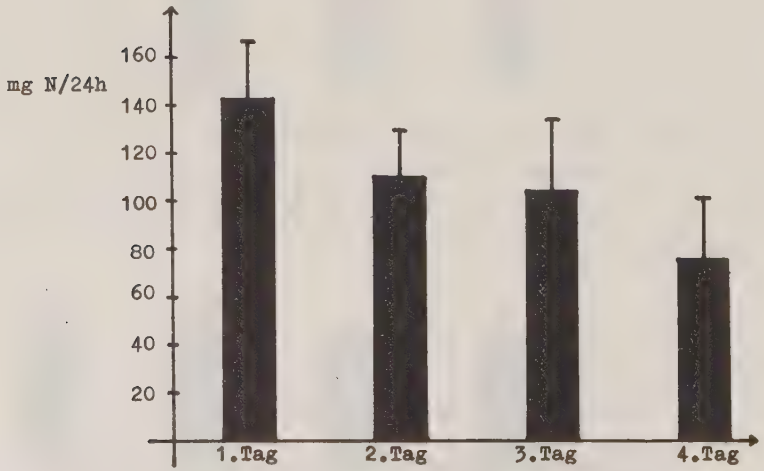

Abb.9 Hunger über 24h und anschließende Ernährung mit 4ml Olivenöl/die über 3 Tage(Gruppe C)
(Means +/- SEM ; n=6)

Kinetik ausgewählter Aminosäuren im Blut im mehrtägigen Versuch (Abb.10 - 13)

o— — —o Hunger über 3,5 Tage (Gruppe B)
(Means +/- SEM ; n=5)

▲——▲ Hunger über 24h und anschließende Ernährung mit 2 x 2ml Olivenöl/die über 3 Tage (Gruppe C)
(Means +/- SEM ; n=6)

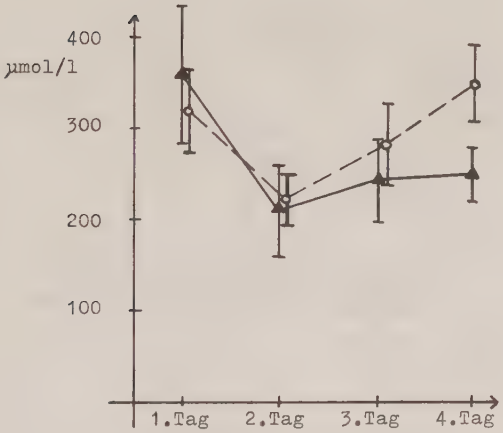

Abb.10 ALANIN

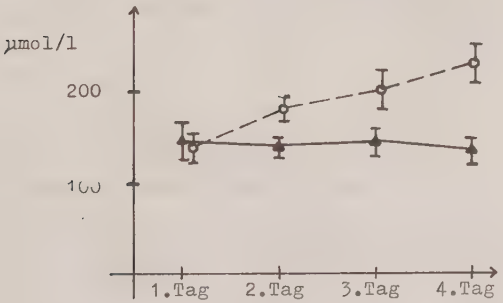

Abb.11 VALIN

o- - - -o Hunger über 3,5 Tage (Gruppe B)
(Means +/- SEM ; n=6)

▲——▲ Hunger über 24h und anschließende Ernährung mit 2 x 2ml Olivenöl/die über 3 Tage (Gruppe C)
(Means +/- SEM ; n=6)

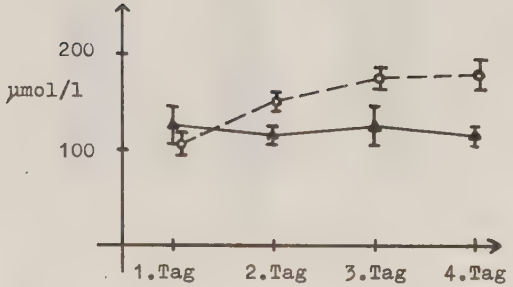

Abb.12 LEUCIN

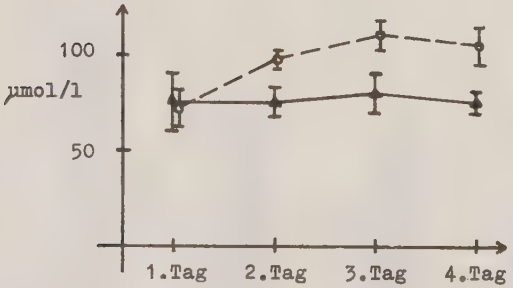

Abb.13 ISOLEUCIN

▲——▲ Nach Applikation von 2ml Olivenöl (⬇)
(Means +/- SEM ; n=6)

O- — — -O Nach Applikation von 2ml NaCl(0,9%) (⬇)
(Means +/- SEM ; n=5)

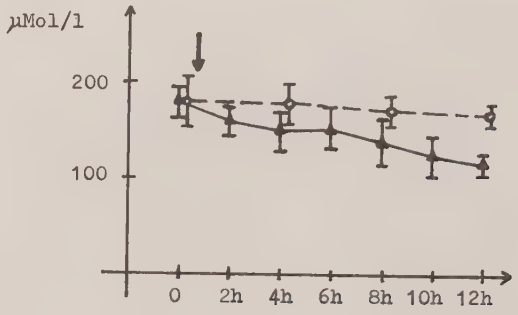

Abb.3 LEUCIN

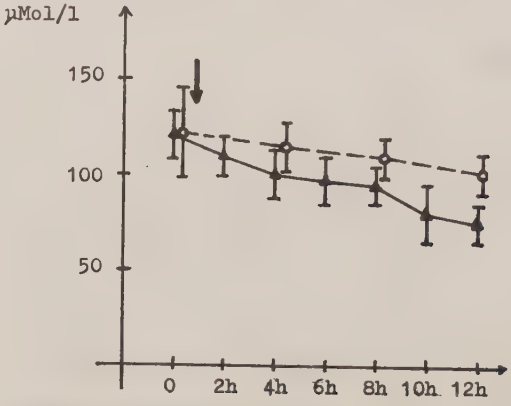

Abb.4 ISOLEUCIN

Kinetik ausgewählter Aminosäuren im Blut im Kurzzeitversuch (Abb.1 - 4)

▲——▲ Nach Applikation von 2ml Olivenöl (↓)
(Means +/- SEM ; n=6)

o— — —o Nach Applikation von 2ml NaCl(0.9%) (↓)
(Means +/- SEM ; n=5)

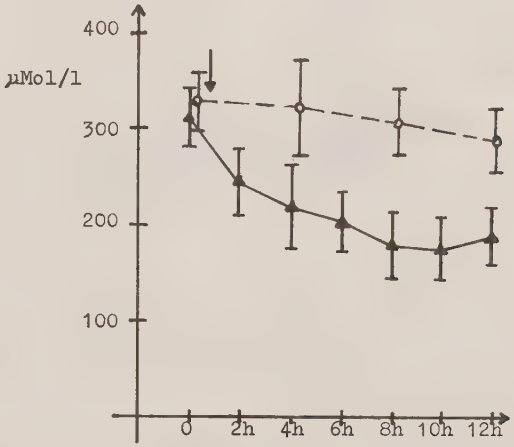

Abb.1 ALANIN

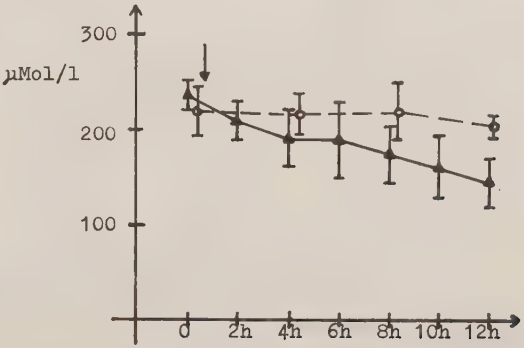

Abb.2 VALIN

Tab.5 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin pro Ratte im mehrtägigen Versuch
(µmol 3MH/24h ; Means +/- SEM)

	Gruppe A (normal; n=2)	Gruppe B (Hunger; n=5)	Gruppe C (Olivenöl; n=6)
1.Tag	2.70 ± 0.63	3.10 ± 0.25	2.72 ± 0.49
2.Tag	3.21 ± 0.55	3.97 ± 0.49	2.84 ± 0.66
3.Tag	2.60 ± 0.25	5.12 ± 1.25	3.14 ± 0.91
4.Tag	2.71 ± 0.10	-	3.06 ± 0.98

Tab.6 Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin pro Ratte im mehrtägigen Versuch
(mg N / 24h ; Means +/- SEM)

	Gruppe B (Hunger; n=5)	Gruppe C (Olivenöl; n=6)
1.Tag	138.35 ± 20.88	143.50 ± 25.70
2.Tag	138.60 ± 27.18	108.88 ± 21.45
3.Tag	149.20 ± 20.05	105.51 ± 29.28
4.Tag	-	73.91 ± 27.00

Tab.7 Aminosäurenkonzentrationen im Blut bei Hunger über 3,5 Tage (Gruppe B)
(µmol/l ; n=5 ; Means +/- SEM)

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag
ASP	111.28 ± 36.63	119.67 ± 16.35	87.36 ± 19.09	115.88 ± 12.33
THR	243.51 ± 31.51	252.90 ± 31.65	237.43 ± 28.92	238.76 ± 16.91
SER	248.90 ± 30.27	242.56 ± 16.37	252.66 ± 21.37	248.89 ± 30.77
ASN	51.85 ± 4.65	46.69 ± 8.13	57.73 ± 10.42	65.57 ± 13.48
GLU	315.95 ± 65.31	307.33 ± 53.38	303.19 ± 31.61	273.76 ± 31.20
GLN	730.44 ± 52.67	734.68 ± 59.60	853.19 ± 81.70	819.14 ± 54.25
GLY	467.19 ± 71.80	466.56 ±129.60	510.61 ± 84.50	525.96 ± 72.27
ALA	317.98 ± 43.86	218.14 ± 26.38	280.23 ± 47.45	346.26 ± 43.27
CIT	55.91 ± 4.39	48.32 ± 9.60	50.93 ± 10.41	44.29 ± 5.23
VAL	139.22 ± 16.43	179.35 ± 11.23	200.72 ± 20.21	229.42 ± 22.68
CYS	23.14 ± 3.29	22.89 ± 1.29	18.80 ± 2.20	17.32 ± 1.98
ILE	72.17 ± 10.49	96.04 ± 4.68	109.43 ± 8.56	104.99 ± 9.71
LEU	105.41 ± 11.26	145.94 ± 4.79	175.98 ± 8.24	181.35 ± 15.11
TYR	80.25 ± 9.56	72.18 ± 7.74	72.26 ± 9.01	97.74 ± 14.05
PHE	72.29 ± 8.11	87.82 ± 11.74	92.40 ± 9.37	117.40 ± 20.98
ORN	57.68 ± 5.85	55.51 ± 2.19	64.16 ± 8.01	65.69 ± 10.11
LYS	512.12 ± 41.98	525.37 ± 53.85	537.01 ± 5.86	558.65 ± 56.14
HIS	65.50 ± 5.30	61.71 ± 4.77	74.01 ± 5.86	85.41 ± 11.23
ARG	206.64 ± 20.51	163.94 ± 12.95	185.53 ± 12.22	198.93 ± 13.07

Tab.8 Aminosäurenkonzentrationen im Blut bei Hunger über 24h und anschließender Ernährung mit 2 x 2ml Olivenöl/die über 3 Tage (Gruppe C)
(µmol/l ; n=6 ; Means +/- SEM)

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag
ASP	63.98 ± 24.31	86.05 ± 53.67	75.52 ± 17.95	64.49 ± 14.33
THR	245.09 ± 13.97	181.74 ± 20.91	191.32 ± 25.17	186.58 ± 15.89
SER	281.97 ± 40.23	247.08 ± 58.26	278.89 ± 42.49	315.67 ± 43.13
ASN	66.09 ± 26.98	40.51 ± 0.52	43.48 ± 2.91	52.10 ± 7.67
GLU	261.47 ± 18.58	250.20 ± 39.65	247.12 ± 52.91	292.94 ± 60.74
GLN	722.16 ±101.10	648.31 ± 48.00	637.90 ± 89.72	636.93 ± 89.32
GLY	421.35 ± 65.25	418.72 ± 44.89	496.87 ± 76.05	575.42 ± 60.41
ALA	358.83 ± 76.43	208.40 ± 49.53	245.72 ± 47.15	251.28 ± 28.35
CIT	62.73 ± 12.35	41.72 ± 4.14	47.62 ± 12.95	59.35 ± 15.11
VAL	148.70 ± 19.37	139.58 ± 9.53	147.26 ± 16.58	134.38 ± 13.72
CYS	23.94 ± 2.81	20.99 ± 5.63	18.51 ± 2.61	19.88 ± 1.47
ILE	73.70 ± 11.43	73.16 ± 3.90	82.45 ± 10.04	76.98 ± 6.29
LEU	123.20 ± 18.79	112.52 ± 4.97	123.81 ± 17.80	116.99 ± 9.92
TYR	70.01 ± 17.95	63.55 ± 11.19	72.97 ± 20.24	56.86 ± 6.58
PHE	79.60 ± 18.49	81.11 ± 26.29	100.33 ± 20.83	88.47 ± 23.70
ORN	58.72 ± 16.05	48.05 ± 4.79	52.55 ± 10.42	62.50 ± 11.35
LYS	535.25 ± 46.15	528.95 ± 26.71	563.67 ± 87.18	567.43 ± 81.11
HIS	71.60 ± 4.36	57.23 ± 8.32	65.36 ± 3.08	63.15 ± 10.63
ARG	229.27 ± 29.70	189.81 ± 27.37	199.55 ± 37.61	197.04 ± 33.56

IV) Diskussion

Der beobachtete deutliche Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren -insbesondere von Alanin, Valin, Leucin und Isoleucin- im Blut nach einmaliger Applikation von 2ml Olivenöl befindet sich in guter Übereinstimmung mit den beobachteten Effekten nach intravenöser Lipidinfusion beim Menschen (1). Dieser Befund ist ohne zusätzliche Informationen schwer deutbar. Es ist bekannt (7), daß bei der Ratte nach einmaliger Applikation von 5ml Baumwollsamenöl die Blutglucose nach 7h auf 160% des Ausgangswertes ansteigt. Daher ist nicht anzunehmen, daß es sich bei dem von uns beobachteten Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren um den Effekt einer Insulinausschüttung handelt. Der von LENZ et al.(7) beobachtete leichte Konzentrationsanstieg der Glucocorticoide im Plasma nach einmaliger Triglycerid-Applikation kann den Konzentrationsabfall der Aminosäuren etwa im Sinne einer vermehrten Gluconeogenese ebenfalls nicht erklären, da Glucocorticoide wie bekannt die Muskelproteolyse steigern (8,9) und hierdurch die Aminosäurespiegel im Blut erhöhen (10).

Zusätzliche Anhaltspunkte für die Interpretation der beobachteten Veränderungen der Aminosäurespiegel im Blut nach einmaliger Olivenöl-Gabe ergeben sich aus den Ergebnissen unserer mehrtägigen Versuche. Ziel dieser Experimente war die Messung der Muskelproteolyse unter einer ausschließlich aus Fett bestehenden, kalorisch ausreichenden Diät über mehrere Tage. Als ein Parameter der Muskelproteolyse wurde die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin bei hungernden beziehungsweise ölernährten Tieren bestimmt.

Aus Untersuchungen von GOLDSTEIN und CURNOW (11) ist bekannt, daß bei der Ratte im Hunger der Glykogenspeicher der Leber nach 24h bis auf 3% des Ausgangswertes ausgeschöpft ist. Es ist also anzuneh-

men, daß in den ersten 24 Stunden des Hungers zunächst Glykogen und leichtmobilisierbare Proteine (z.B. in Leber und Darm) abgebaut werden. Daher ist es nicht überraschend, daß die 3-Methylhistidin-Ausscheidung sowohl in der Hungergruppe B als auch in der zunächst für 24h hungernden Ölgruppe C während der ersten 24h-Sammelperiode nicht über dem Vergleichswert der normalernährten Tiere der Gruppe A liegt.

Der bei den hungernden Tieren am 2. und 3.Tag beobachtete starke Anstieg der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin steht in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen von Untersuchungen an der wachsenden Ratte (9,12,13). Diese vermehrte 3-Methylhistidin-Ausscheidung ist sicherlich im Sinne einer Steigerung der Muskelproteolyse zu werten. Es ist bekannt (11), daß bei der Ratte im Hunger über mehrere Tage der Insulin-Spiegel im Plasma sehr stark abfällt. Da Insulin nach übereinstimmender Ansicht mehrerer Autoren (9,14,15) die Muskelproteolyse hemmt, liegt in diesem Insulinabfall sicherlich ein begünstigender Faktor für die gesteigerte Proteolyse, zumal es zum Überwiegen proteinkataboler Hormone wie etwa der Glucocorticoide (9) kommen dürfte.

Die Spezifität der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin als Maß für den Muskelprotein-Turnover wird in der Literatur wieder kritischer gesehen. Nach seiner Identifizierung als Bestandteil von Aktin durch ASATOOR und ARMSTRONG (16) fanden andere Untersucher (17,18), daß etwa 90% des 3-Methylhistidin-Pools bei der Ratte in der Skelettmuskulatur angesiedelt sind. Die Tatsache, daß 3-Methylhistidin nach Freisetzung durch proteolytische Prozesse nicht reutilisiert werden kann (17,18,19), sondern rasch und nahezu quantitativ im Urin ausgeschieden wird (17,19), ließ vielen Autoren die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin als geeigneten Parameter des Muskelprotein-Turnovers erscheinen (12,15,17,19). Die Umsatzraten der an der

3-Methylhistidin-Ausscheidung beteiligten Gewebe wurden allerdings nicht berücksichtigt. In neueren Turnover-Messungen fanden dann jedoch NISHIZAWA et al. (20), daß Haut und Gastrointestinaltrakt einen Anteil von mindestens 16,6% an der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin haben, und MILLWARD et al. (21), daß maximal 74,5% der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin aus der Skelettmuskulatur stammen. MILLWARD schränkte die Spezifität der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin für die Muskelproteolyserate ein (21). Allerdings gelten die von ihm angestellten Turnover-Messungen verschiedener an der 3-Methylhistidin-Ausscheidung beteiligter Organe und Gewebe für Tiere in quantitativ und qualitativ ausgeglichener Ernährungssituation. Daher läßt sich aus seinen Untersuchungen keinesfalls widerlegen, daß die von uns festgestellten Veränderungen der 3-Methylhistidin-Ausscheidung unter Hungerbedingungen (Abb.6) oder bei Diabetes (15) überwiegend auf die Skelettmuskulatur zurückzuführen sind. Im Hunger ist keine Änderung der konstanten 3-Methylhistidin-Produktion im extramuskulären 3-Methylhistidin-Kompartement, sondern vielmehr eine vom 2.Tag des Hungers an zunehmende 3-Methylhistidin-Freisetzung aus der Skelettmuskulatur im Sinne einer gesteigerten Muskelproteolyse zu erwarten (Stadium 2 des Hungers).

Ein weiteres Argument für die Annahme einer deutlich gesteigerten Proteolyse im Hunger ist der von uns beobachtete Konzentrationsanstieg zahlreicher Aminosäuren im Blut bei Hunger über mehrere Tage. Besonders deutlich sind die verzweigtkettigen Aminosäuren betroffen (Abb.11-13), die bekanntermaßen auf Veränderungen der Stoffwechsellage besonders empfindlich reagieren (3,22). Nach ADIBI (3) sind im Hunger beim Menschen beobachtete Änderungen der Aminosäurespiegel durch Aktivitätsänderungen von Transaminasen

und α-Ketosäuren-Dehydrogenasen in der Leber nicht erklärbar. Aufgrund unserer Ergebnisse nehmen wir an, daß ein verstärkter Eiweißabbau im Muskel die Ursache für die erhöhten Aminosäurespiegel im Blut unter Hungerbedingungen darstellt.

Bei Deckung des täglichen Kalorienbedarfes durch alleinige Gabe von 4ml Olivenöl/die (Versuchsgruppe C) beobachteten wir über vier Tage die Unterdrückung sämtlicher in der Hungergruppe beobachteten Veränderungen. Da die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24h-Urin bei den ölernährten Tieren nahezu konstant ist und an keinem Tag signifikant über den Vergleichswerten der normalernährten Tiere liegt, muß geschlossen werden, daß unter Lipidgabe keine Zunahme der Muskelproteolyse erfolgt, sondern vielmehr der basale Turnover beibehalten wird. Für diese Annahme spricht auch der fehlende Konzentrationsanstieg der verzweigtkettigen sowie einiger anderer Aminosäuren im Blut(Abb. 10-13) bei den ölernährten Tieren. Schließlich zeigt der Vergleich der Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24h-Urin, daß diese in der Hungergruppe geringfügig ansteigt, während sie in der ölernährten Gruppe auf 51% des Ausgangswertes abfällt (Abb.8,9). Dieser Effekt dürfte auf die Unterbrechung der Stickstoffzufuhr über die Nahrung zurückzuführen sein und wird in der Hungergruppe durch vermehrten Anfall von durch Proteolyse freigesetztem Stickstoff überlagert. Ein Rückgang der Proteolyse-Rate bei den ölernährten Tieren kann aus dem Abfall der Stickstoffausscheidung allerdings nicht gefolgert werden.

Die erhobenen Befunde zeigen, daß bei Zufuhr des zur Erhaltung des Körpergewichtes benötigten Energiebedarfs in Form von Fett die im Hunger auftretende Steigerung der Muskelproteolyse völlig unterdrückt wird, obwohl in dieser qualitativ unzureichenden Diät Kohlenhydrate und Aminosäuren fehlen. Offenbar ist

entscheidend, daß ein ausreichendes Angebot an freien Fettsäuren und Ketonkörpern in der Lage ist, die im Hunger auftretende Steigerung der Proteolyse auf Substratebene zu hemmen. Für Glucose ist ein vergleichbarer hemmender Effekt auf die Muskelproteolyserate bei der Ratte aus Untersuchungen von FULKS et al.(14) bekannt. Ob es über den primär kalorischen einen spezifischen hemmenden Effekt der Fettsäuren auf die Proteolyserate des Skelettmuskels gibt, läßt sich an Hand unserer Untersuchungen nicht beurteilen. Allerdings vermag die Annahme einer Hemmung der Muskelproteolyse durch die verabreichten Fettsäuren den besonders deutlichen Konzentrationsabfall von Alanin, Glutamin sowie den verzweigtkettigen Aminosäuren nach einmaliger Gabe von 2ml Olivenöl zu erklären(Abb.1-4). Da diese Aminosäuren infolge von Transaminierungsvorgängen ständig in höherem Maße aus dem Skelettmuskel abgegeben werden, als es nach der Zusammensetzung des Muskeleiweißes erwartet werden kann (23,24), werden sie von einer Hemmung der Muskelproteolyse besonders deutlich betroffen.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß es gelingt, durch Zufuhr des zur Erhaltung des Körpergewichtes benötigten Kalorienbedarfes in Form von Triglyceriden bei der Ratte für einige Tage die Muskelproteolyse auf dem basalen Turnover-Wert einer vergleichbaren normalernährten Gruppe zu halten. Alle für einen beginnenden Hungerstoffwechsel charakteristischen Veränderungen werden trotz der qualitativ unzureichenden Diät auf Substratebene vollständig unterdrückt. Die beobachteten Veränderungen in den Blutkonzentrationen verschiedener Aminosäuren nach einmaliger Triglyceridgabe lassen sich befriedigend nur durch die Annahme einer Hemmung der Muskelproteolyse durch das verabreichte Lipid erklären. Ob es über den kalorischen, der Glucose vergleichbaren Effekt der Fettsäu-

ren hinaus einen spezifischen fettsäurebedingten Effekt auf die Muskelproteolyse gibt, läßt sich auf Grund dieser Untersuchung nicht sicher beurteilen.

Literaturverzeichnis

1 JANSING,P. und REINAUER,H.: Über den Abbau von mittel- und langkettigen Triglyceriden nach intravenöser Infusion beim Menschen. Infusionstherapie,5/26-32(1978)

2 NAKANO,K. und ASHIDA,K.: Effect of Dietary Carbohydrate and Fat on Amino Acid-degrading Enzymes in Relation to their Protein Sparing Action. J.Nutrition,100/208-216 (1969)

3 ADIBI,S.A.: Metabolism of Branched-chain Amino Acids in Altered Nutrition. Metabolism 25/1287-1302 (1976)

4 RAUEN,H.: Biochemisches Taschenbuch. Springer (1977)

5 METTA,V. und MITCHEL,H.: Determination of the Metabolizable Energie of Organ Nutrients for the Rat. J.Nutr. 52/601-611 (1954)

6 Metta,V.,FIRTH,J. und CONNOR JOHNSON,B.: Energy Requirements of the Adult Rat Fed an Amino Acid Diet. J.Nutr. 71/332-336 (1960)

7 LENZ,P.,WIEN,G. und FLEISCHMANN,A.: Corticoid Release and Gluconeogenesis Following Triglyceride Ingestions in the Rat. Lipids 5/524-530 (1971)

8 TOMAS,F.,MUNRO,H. und YOUNG,V.: Effect of Glucocorticoid Administration on the Rate of Muscle Protein Breakdown in vivo in Rats, as Measured by Urinary Excretion of N-Methylhistidine. Biochem.J.178/139-149 (1979)

9 NISHIZAWA,N.,SHIMBO,M.,NAGUCHI,T.,HAREYAMA,S. und FUNABIKI,R.: Effect of Starvation, Refeeding and Hydrocortisone Administration on Turnover of Myofibrillar Proteins Estimatid by Urinary Excretion of N-Methylhistidine. Agric.Biol.Chem. 42/2083-2089 (1978)

10 IZZO,J.L. und GLASSER,S.R.: Comparative Effects of Glucagon, Hydrocortisone and Epinephrine on the Protein Metabolism of the Fasting Rat.Endocr. 68/189-198(1961)

11 GOLDSTEIN,D. und CURNOW,R.: Effect of Starvation on Hepatic Glykogen Metabolism and Glucose Homeostasis. Metabolism 27/315-323 (1978)

12 HAVERBERG,L.,DECKELBAUM,L.,BILMAZES,C.,MUNRO,H. and YOUNG,V.: Myofibrillar Protein Turnover and Urinary N-Methylhistidine Output. Biochem.J. 152/503-510(1975)

13 WASSNER,S.,ORLOFF,S. und HOLLIDAY,M.: Protein Degradation in Muscle: Response to Feeding and Fasting in Growing Rats. Am.J.Physiology 233/119-123 (1977)

14 FULKS,R.M.,LI,J.B. und GOLDBERG,A.L.: Effects of Insulin, Glucose and Amino Acids on Protein Turnover in Rat Diaphragm. J.Biol.Chem. 250/290-298 (1975)

15 DAHLMANN,B.,SCHROETER,C.,HERBERTZ,L. und REINAUER,H.: Myofibrillar Protein Degradation and Muscle Proteinases in Normal and Diabetic Rats. Biochem.Med.21/33-39(1979)

16 ASATOOR,A. und ARMSTRONG,M.: 3-Methylhistidine, a Component of Actin. Biochem.Biophys.Res.Commun. 26/168-174 (1967)

17 YOUNG,V. und MUNRO,H.: N-Methylhistidine and Muscle Protein Turnover: An Overview. Federation Proc. 37/2291-2300 (1978)

18 HAVERBERG,L.,OMSTEDT,P.,MUNRO,H. und YOUNG,V.: N-Methylhistidine Content of Mixed Proteins in Various Rat Tissues. Biochem.Biophys.Acta 405/67-71 (1975)

19 WARD,L. und BUTTERY,P.: N-Methylhistidine -an Index of the true Rate of Myofibrillar Degradation? An Apraisal. Life Science 23/1103-1116 (1978)

20 NISHIZAWA,N.,NOGUCHI,T.,HAREYAMA,S. und FUNABIKI,R.: Fractional Flux Rates of N-Methylhistidine in Skin and Gastrointestine: The Contribution of these Tissues to Urinary Excretion of N-Methylhistidine in the Rat. J.Nutr. 38/149-152 (1977)

21 MILLWARD,D.,BATES,P.,GRIMBLE,G. und BROWN,J.: Quantitative Importance of Non-skeletal-muscle Sources of N-Methylhistidine in Urine.Biochem.J.190/225-228(1980)

22 FELIG,P.,OWEN,O.,WAHREN,J. und CAHILL Jr.,G.: Amino Acid Metabolism During Prolonged Starvation. J.Clin. Investig. 48/584-594 (1969)

23 FELIG,P.,POZEFSKY,T.,MARLISS,E. und CAHILL Jr.,G.: Alanin: Key Role in Gluconeogenesis. Science 167/1003-1004 (1970)

24 ODESSEY,R.,KHAIRALLAH,E. und GOLDBERG,A.: Origin and Possible Significance of Alanin Production by Skeletal Muscle. J.Biol.Chem. 249/7623-7629 (1974)

Lebenslauf

28.10.1957	Geboren in Geldern als erster von zwei Söhnen der Eheleute Alexander und Ingrid Kaufmann
1964 - 1967	Besuch der Albert-Schweitzer-Grundschule in Geldern
1967 - 1976	Besuch des Friederich-Spee-Gymnasiums in Geldern
Juni 1976	Reifeprüfung
Okt. 1976	Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Universität Düsseldorf
August 1978	Ablegen der Ärztlichen Vorprüfung
August 1979	Ablegen des Ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
August 1981	Ablegen des Zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
November 1982	Ablegen des Dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
12.11.1982	Erteilung der Approbation als Arzt

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Reinauer sehr herzlich für die Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Lothar Bohne und Herrn Dr. Lothar Herbertz für viele hilfreiche methodische Hinweise sowie Herrn cand.med. Peter Radermacher, Frau Sylvia Mosler und Frau Julia Zorkoczy für die stets kollegiale und immer angenehme Zusammenarbeit.